植 物 分 类 学 报 41 (6): 520 - 530 (2003)
Acta Phytotaxonomica Sinica

芸薹属多倍体植物基因组进化的 RAPD 分析

刘爱华 王建波* 朱英国

(武汉大学植物发育生物学教育部重点实验室 武汉 430072)

RAPD analysis on the genome evolution of polyploids in *Brassica*

LIU Ai-Hua WANG Jian-Bo* ZHU Ying-Guo

(*Key Laboratory of Ministry of Education for Plant Developmental Biology, Wuhan University*, Wuhan 430072, China)

Abstract Polyploidy has played an important role in the evolution of higher plants. In order to understand how polyploid genomes evolve after their formation, the *Brassica* triangle was used to study genomic evolution after the formation of polyploids. Random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis was performed on the diploids and allopolyploids in *Brassica* triangle with 38 random 10-base primers. A total of 273 bands were detected, among which 264 bands were polymorphic. Based on the RAPD data, genetic distances among the samples were calculated and two dendrograms were constructed by using UPGMA method. The results have revealed that (1) *B. campestris* (AA) was more closely related to *B. oleracea* (CC) than to *B. nigra* (BB), (2) *B. napus* (AACC) nested with its diploid progenitors, *B. campestris* (AA) and *B. oleracea* (CC), in one cluster, and (3) the allopolyploids carrying B genome nested with *B. nigra* (BB) in other cluster. The results suggest that both genome A and genome C are not much modified after the formation of *B. napus* (AACC) and that genome B is modified less than genome A or C after B and A, or B and C merge into a common nucleus.

Key words *Brassica*, polyploid, genome evolution, RAPD.

摘要 多倍化是促进高等植物发生进化的重要力量。为了更清楚地了解多倍体在形成之后其基因组是如何进化的,利用 38 个随机引物对芸薹属 *Brassica* L.禹氏三角(U'Triangle)中的多倍体物种及其祖先二倍体物种进行了研究。根据扩增出的 273 条带计算了遗传距离,并用 UPGMA 法进行了聚类分析。结果发现,二倍体物种 *B. campestris* (AA)与 *B. oleracea* (CC)的亲缘关系比与 *B. nigra* (BB)的要近;异源多倍体 *B. napus* (AACC)比起其二倍体祖先之一 *B. campestris*(AA)与另一个祖先种 *B. oleracea*(CC)的关系更近,异源多倍体 *B. juncea* (AABB)和 *B. carinata*(BBCC)都只与其二倍体祖先种之一 *B. nigra* (BB)的关系更为接近。结合统计分析的结果表明,比较而言,异源多倍体 *B. napus* (AACC)形成后其祖先基因组 A 和 C 变化不大;*B. juncea*(AABB)和 *B. carinata* (BBCC)形成后各自都是其一个祖先基因组,即 B 基因组变化较小,其余的基因组变化较大。

关键词 芸薹属; 多倍体; 基因组进化; RAPD

多倍化是植物产生新物种的重要方式。与其他真核生物的多倍体进化相比,植物中多倍体的进化表现为一个持续、动态的过程(杨继,2001;Wendel,2000)。在这一过程中,曾经彼此独立进化的基因组经杂交和多倍化后处于同一个细胞核中,祖先基因组间如何

2003-01-20 收稿, 2003-08-01 收修改稿。
基金项目:国家自然科学基金资助项目(30170063)(Supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No. 30170063))。
* 通讯作者(Author for correspondence. Tel: 027-87682213; E-mail: jbwang@whu.edu.cn)。

相互作用、进化是一个非常活跃的研究领域。基于以往对多倍体基因组内某一基因片段进化的研究(Waters & Schaal, 1996),或是对多倍体内整个基因组的进化的研究(Song et al., 1995),人们提出了多倍体进化的不同模式,为多倍体进化提供了重要信息(Hanson et al., 1998; Axelsson et al., 2000)。但是,多倍体进化是一个非常复杂的过程,需要更广泛的研究来了解多倍体的进化历程。

芸薹属 *Brassica* L.是十字花科 Cruciferae 的一个重要属,包含了许多经济上有重要价值的作物,如油菜、芥菜、白菜、甘蓝等,同时又是一个由二倍体和四倍体物种构成的典型的多倍体复合体,是研究多倍体进化的良好材料。早在 1935 年,日本学者 U Nagaharu 通过总结前人的实验结果,并在细胞学研究的基础上,提出了禹氏三角假说(U N,1935)。他们把芸薹属植物分为基本种(或原初种,primary species),包括芸薹 *B. campestris* L.(n = 10)、甘蓝 *B. oleracea* L. (n = 9)、黑芥 *B. nigra* (L.) Koch (n = 8) 3 个二倍体种,以及复合种(或次生种,secondary species),即芥菜 *B. juncea* (L.) Czern. & Coss.(n = 18)、欧洲油菜 *B. napus* L.(n = 19)、埃塞俄比亚芥 *B. carinata* A. Braun (n = 17) 3 个异源四倍体种,并把它们的种间亲缘关系用三角形来表示,称为禹氏三角(U'Triangle), 如图 1 所示。其中, 3 个复合种是由 3 个基本种经过相互杂交、染色体加倍而来,这一结论已经得到公认,为进一步研究该属多倍体基因组的进化奠定了基础。

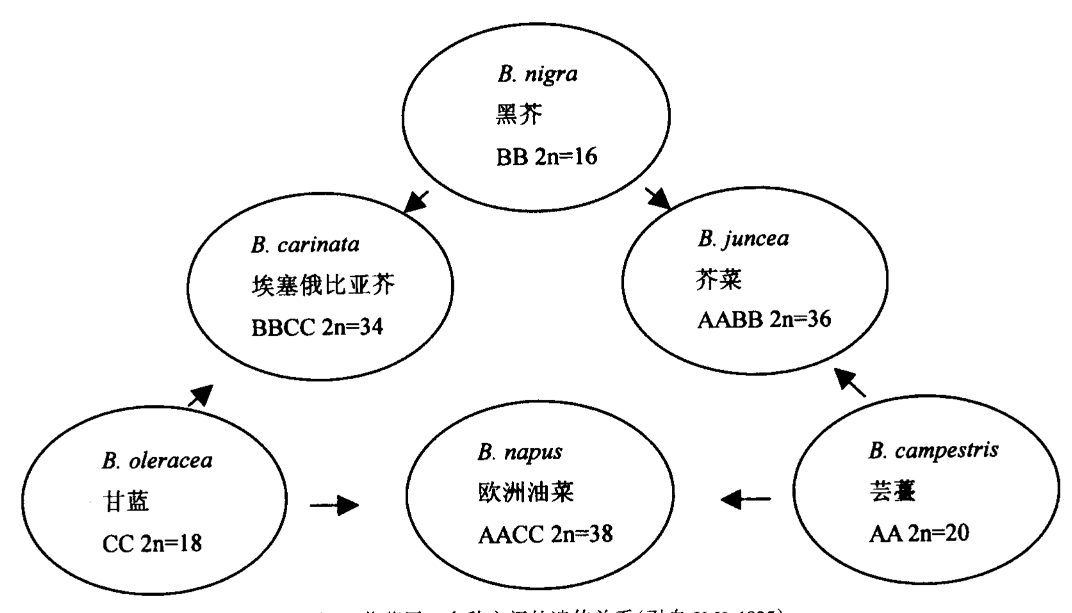


图 1　芸薹属 6 个种之间的遗传关系(引自 U N,1935)

Fig. 1.　Genetic relationship of six species in *Brassica* (After U N, 1935).

Warwick 和 Black(1991)在用 cpDNA 对芸薹属植物进行研究时发现,芸薹和甘蓝属于一个进化谱系,而黑芥属于另一个进化谱系。Song 等(1995)的研究也证实了这一点。同时 Song 等(1995)认为人工合成的芸薹属多倍体植物形成后伴随着快速的基因组的变化,但 Axelsson 等(2000)在自然形成的芥菜中没有观察到类似的现象。RAPD 方法自发明后就在研究基因组间的亲缘演化关系和系统进化方面发挥了重要作用(彭建营等,2002; 罗素兰等,2001; 蔡从利等,2001; Demeke et al., 1992),因此我们用 RAPD 方法分析了芸薹

属的多倍体物种及其祖先二倍体物种间的亲缘关系和多倍体形成后基因组的变化情况，以期能够为研究多倍体基因组的进化积累更多的资料。

1 材料和方法

1.1 材料

本实验所用芸薹属33份材料及主要特征见表1。

表1 材料来源及其倍性和基因组组成
Table 1 Origin, ploidy level and genomic constitution of material

编号 Accession No.	品种名或编号 Cultivars	倍性 Ploidy level	基因组 Genome	来源 Source
A01	上海青 *Brassica campestris* L. var. *chinensis* L. cv. Shanghaiqing	2×	AA	WIV
A02	矮抗青 *B. campestris* var. *chinensis* cv. Aikangqing	2×	AA	WIV
A03	山东七号 *B. campestris* var. *pekinensis* (Lour.) Rupr. cv. Shandongqihao	2×	AA	WIV
A04	胶白五号 *B. campestris* var. *pekinensis* cv. Jiaobaiwuhao	2×	AA	WIV
A05	乌塌菜 *B. campestris* var. *narinosa* L. H. Bailey cv. Wutacai	2×	AA	WIV
A06	紫菜薹 *B. campestris* var. *purpuraria* L. H. Bailey cv. Zicaitai	2×	AA	WIV
A07	十月红菜薹 *B. campestris* var. *purpuraria* cv. Shiyuehong	2×	AA	WIV
A08	*B. campestris* var. *oleifera* Makino 783-34918	2×	AA	IOG
B01	*B. nigra* (L.) Koch PI169069	2×	BB	IOG
B02	*B. nigra* PI592737	2×	BB	IOG
B03	*B. nigra* B180	2×	BB	UC
B04	*B. nigra*	2×	BB	SU
C01	瑞雪特大 *B. oleracea* L. var. *botrytis* L. cv. Ruixueteda	2×	CC	WIV
C02	京研45 *B. oleracea* var. *botrytis* cv. Jingyan 45	2×	CC	WIV
C03	羽衣甘蓝(黄皮)*B. oleracea* var. *acephala* L. f. *tricolor* Hort. cv. Yuyiganlan	2×	CC	WU
C04	羽衣甘蓝(红皮)*B. oleracea* var. *acephala* f. *tricolor* cv. Yuyiganlan	2×	CC	WU
C05	京丰一号 *B. oleracea* var. *capitata* L. cv. Jingfengyihao	2×	CC	WIV
C06	中甘十一号 *B. oleracea* var. *capitata* cv. Zhongganshiyihao	2×	CC	WIV
C07	中甘八号 *B. oleracea* var. *capitata* cv. Zhongganbahao	2×	CC	WIV
C08	夏光甘蓝 *B. oleracea* var. *capitata* cv. Xiaguangganlan	2×	CC	WIV
C09	徐甘一号 *B. oleracea* var. *capitata* cv. Xuganyihao	2×	CC	WIV
AB1	雪里蕻 *B. juncea* (L.) Czern. & Coss. var. *multiceps* Tsen & Lee cv. Xuelihong	4×	AABB	WIV
AB2	四川一号 *B. juncea* var. *tumida* Tsen & Lee cv. Sichuanyihao	4×	AABB	WIV
AB3	包心芥 *B. juncea* var. *capitata* Hort. & Li cv. Baoxinjie	4×	AABB	WIV
AB4	二道眉芥 *B. juncea* var. *megarrhiza* Tsen & Lee cv. Erdaomeijie	4×	AABB	WIV
AB5	贵定高油 *B. juncea* var. *gracilis* Tsen & Lee cv. Guidinggaoyou	4×	AABB	IOG
AB6	屯留黄芥 *B. juncea* var. *gracilis* cv. Tunliuhuangjie	4×	AABB	IOG
AC1	*B. napus* L. 3-KARAT 5189	4×	AACC	IOG
AC2	*B. napus* Idol 5169	4×	AACC	IOG
BC1	*B. carinata* A. Braun 77-1226	4×	BBCC	IOG
BC2	*B. carinata* B203	4×	BBCC	IOG
BC3	*B. carinata*	4×	BBCC	HZAU
BC4	*B. carinata*	4×	BBCC	SU

HZAU，华中农业大学；IOG，中国农业科学院油料作物研究所；SU，波兰 Silesian 大学；UC，美国加利福尼亚大学；WIV，武汉蔬菜研究所；WU，武汉大学。
HZAU, Huazhong Agricultural University; IOG, Institution of Oil Crops, Chinese Academy of Agricultural Sciences; SU, University of Silesian, Poland; UC, University of California, USA; WIV, Institute of Vegetables, Wuhan; WU, Wuhan University.

1.2 方法

采用 CTAB 微量法提取植物总 DNA，具体操作参见 Doyle 和 Doyle(1987)的方法。

PCR 反应在 PE480 型 PCR 仪上进行，引物采用 Sangon 公司的 10 bp 随机引物。反应体系 25 μL：1 × PCR 缓冲液（10 mmol/L Tris-HCl（pH 8.3），50 mmol/L KCl，0.001% gelatin），1.5 mmol/L $MgCl_2$，0.5 μmol/L 随机引物，320 μmol/L dNTPs，约 30 ng 模板 DNA，1 U *Taq* 酶，超纯水补至 25 μL，上覆 30 μL 矿物油。扩增程序如下：94 ℃预变性 5 min；然后 94 ℃变性 1 min，38 ℃退火 1 min，72 ℃延伸 1 min，共 40 个循环；最后 72 ℃延伸 10 min。电泳检测：取扩增产物加适量点样缓冲液后，在含有 0.5% EB 的 1.5%琼脂糖胶中以 1× TAE 为缓冲液电泳 2 – 3 h (4 – 5 V/cm)，然后在 Gel Doc 2000 凝胶成像系统中成像记录。

将重复性好的带用于统计，将有带赋值为 1，无带赋值为 0。用 RAPDDIST 程序计算各样品间的 Nei 氏遗传距离 D，$D = 1 - 2N_{xy}/(N_x + N_y)$，其中 N_x 为样品 x 具有带的条数，N_y 为样品 y 具有带的条数，N_{xy} 为两样品共有带的条数。用 PHYLIP3.5c 软件包的 Neighbor 程序按 UPGMA 方法(Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean)进行聚类分析。

2 结果和分析

2.1 遗传距离和聚类分析

对 Sangon 公司的 110 个 10 bp 引物进行筛选，选择能够扩增出清晰、稳定带的引物共 38 个进行正式扩增并参与统计。这些引物共扩增出 273 条带，每个引物扩增出的带在 3 – 12 条之间，平均每个引物扩增出约 7.2 条带。在 273 条带之中，仅有 9 条带为各物种所共有(3.29%)，其余的 264 条带都表现出丰富的多态性，表明芸薹属各物种的基因组组成有较大差异。图 2 是引物 S245 扩增产物经电泳形成的带谱。

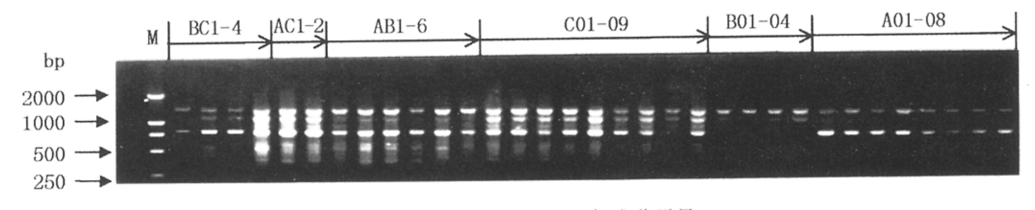


图 2　引物 S245 扩增产生的 RAPD 图谱　编号参照表 1；M，DNA 标准分子量 DL 2000。

Fig. 2. RAPD profiles pattern amplified by primer S245. The accession numbers are the same as those listed in Table 1; M, DNA marker, DL 2000.

33 个多倍体或二倍体的 Nei 氏遗传距离见表 2。从该表中可以看出二倍体材料之间遗传距离最小的为 0.041(C07-C08)，最大的为 0.832(B04-A01，B04-A05 和 B04-A08)。多倍体材料之间遗传距离最小的为 0.057(BC2-BC1)，最大的为 0.856(AC1-AB3)。二倍体材料与多倍体材料之间遗传距离最小的为 0.307(AC2-C04)，最大的为 0.903(AB2-C05)。

UPGMA 法聚类分析所得 21 个二倍体的聚类图见图 3。从该图来看，这 21 个二倍体聚成两个大分支。其中一个大分支由所有基因组为 BB 的二倍体聚合而成；另一个大分支又由两个次级分支聚合而成，这两个次级分支是由所有基因组为 AA 和 CC 的二倍体分别聚合而成的。

表 2 芸薹属 33 个二倍体及多倍体间的 Nei 氏遗传距离*

Table 2 Nei's genetic distances among 33 diploids and polyploids in *Brassica**

	A01	A02	A03	A04	A05	A06	A07	A08	B01	B02	B03	B04	C01	C02	C03	C04
A01	0.000															
A02	0.099	0.000														
A03	0.248	0.204	0.000													
A04	0.168	0.198	0.192	0.000												
A05	0.116	0.145	0.249	0.145	0.000											
A06	0.127	0.145	0.274	0.168	0.061	0.000										
A07	0.139	0.180	0.235	0.133	0.116	0.127	0.000									
A08	0.174	0.180	0.261	0.216	0.150	0.162	0.150	0.000								
B01	0.827	0.765	0.527	0.703	0.776	0.755	0.724	0.755	0.000							
B02	0.787	0.734	0.519	0.734	0.787	0.787	0.765	0.744	0.078	0.000						
B03	0.634	0.625	0.430	0.536	0.653	0.634	0.562	0.616	0.328	0.335	0.000					
B04	0.832	0.798	0.625	0.693	0.832	0.809	0.809	0.832	0.192	0.162	0.267	0.000				
C01	0.597	0.588	0.462	0.588	0.597	0.653	0.562	0.597	0.592	0.588	0.494	0.570	0.000			
C02	0.544	0.553	0.400	0.553	0.616	0.616	0.544	0.579	0.579	0.553	0.430	0.570	0.105	0.000		
C03	0.579	0.570	0.478	0.570	0.579	0.579	0.544	0.562	0.616	0.625	0.462	0.553	0.127	0.150	0.000	
C04	0.519	0.527	0.438	0.527	0.536	0.570	0.470	0.519	0.607	0.597	0.439	0.597	0.175	0.180	0.067	0.000
C05	0.510	0.570	0.510	0.536	0.562	0.616	0.527	0.527	0.634	0.663	0.446	0.570	0.174	0.198	0.139	0.122
C06	0.562	0.607	0.478	0.553	0.597	0.616	0.544	0.579	0.597	0.607	0.415	0.519	0.162	0.139	0.139	0.133
C07	0.570	0.616	0.502	0.544	0.625	0.625	0.570	0.588	0.625	0.653	0.438	0.544	0.168	0.180	0.122	0.127
C08	0.570	0.597	0.519	0.544	0.625	0.663	0.570	0.625	0.683	0.713	0.486	0.579	0.133	0.156	0.122	0.127
C09	0.536	0.579	0.486	0.527	0.570	0.607	0.155	0.570	0.644	0.653	0.454	0.562	0.168	0.192	0.110	0.116
AB1	0.562	0.553	0.527	0.502	0.527	0.527	0.527	0.544	0.360	0.349	0.446	0.349	0.693	0.653	0.673	0.683
AB2	0.553	0.544	0.607	0.579	0.536	0.536	0.536	0.588	0.408	0.400	0.625	0.446	0.830	0.787	0.832	0.844
AB3	0.634	0.644	0.673	0.663	0.616	0.653	0.634	0.653	0.385	0.378	0.597	0.393	0.844	0.821	0.821	0.809
AB4	0.553	0.634	0.644	0.579	0.553	0.570	0.536	0.625	0.454	0.462	0.607	0.446	0.744	0.703	0.744	0.755
AB5	0.512	0.527	0.502	0.478	0.519	0.519	0.502	0.553	0.423	0.385	0.553	0.462	0.723	0.683	0.744	0.755
AB6	0.470	0.478	0.355	0.400	0.502	0.502	0.486	0.553	0.349	0.371	0.349	0.356	0.519	0.434	0.570	0.562
AC1	0.502	0.462	0.438	0.415	0.470	0.470	0.502	0.486	0.703	0.734	0.588	0.634	0.349	0.363	0.370	0.342
AC2	0.446	0.454	0.494	0.423	0.430	0.430	0.446	0.446	0.693	0.744	0.597	0.663	0.400	0.415	0.328	0.307
BC1	0.673	0.703	0.579	0.644	0.693	0.713	0.653	0.713	0.371	0.393	0.430	0.408	0.385	0.430	0.430	0.403
BC2	0.723	0.776	0.625	0.713	0.744	0.787	0.703	0.765	0.393	0.400	0.486	0.415	0.408	0.454	0.470	0.478
BC3	0.673	0.723	0.579	0.644	0.713	0.755	0.673	0.713	0.385	0.393	0.400	0.363	0.446	0.478	0.478	0.470
BC4	0.634	0.683	0.597	0.625	0.653	0.693	0.616	0.693	0.385	0.378	0.446	0.349	0.430	0.478	0.430	0.423

* 材料序号同表 1。
The accession numbers of materials are the same as those listed in Table 1.

C05	C06	C07	C08	C09	AB1	AB2	AB3	AB4	AB5	AB6	AC1	AC2	BC1	BC2	BC3	BC4
0.000																
0.105	0.000															
0.099	0.067	0.000														
0.088	0.088	0.041	0.000													
0.122	0.099	0.083	0.083	0.000												
0.713	0.673	0.683	0.723	0.607	0.000											
0.903	0.855	0.844	0.867	0.798	0.204	0.000										
0.844	0.821	0.832	0.879	0.765	0.186	0.122	0.000									
0.787	0.723	0.713	0.755	0.693	0.281	0.235	0.204	0.000								
0.787	0.744	0.755	0.776	0.734	0.781	0.174	0.704	0.198	0.000							
0.519	0.486	0.494	0.544	0.562	0.307	0.400	0.423	0.356	0.314	0.000						
0.393	0.393	0.371	0.371	0.356	0.663	0.734	0.856	0.755	0.653	0.527	0.000					
0.842	0.371	0.378	0.363	0.335	0.562	0.723	0.713	0.606	0.644	0.588	0.133	0.000				
0.462	0.400	0.393	0.393	0.393	0.439	0.519	0.494	0.454	0.438	0.363	0.486	0.446	0.000			
0.486	0.438	0.430	0.438	0.430	0.439	0.510	0.470	0.446	0.478	0.415	0.544	0.519	0.057	0.000		
0.478	0.430	0.408	0.439	0.423	0.400	0.519	0.430	0.438	0.486	0.393	0.570	0.527	0.094	0.067	0.000	
0.430	0.430	0.423	0.423	0.438	0.446	0.502	0.446	0.423	0.454	0.408	0.536	0.514	0.116	0.088	0.083	0.000

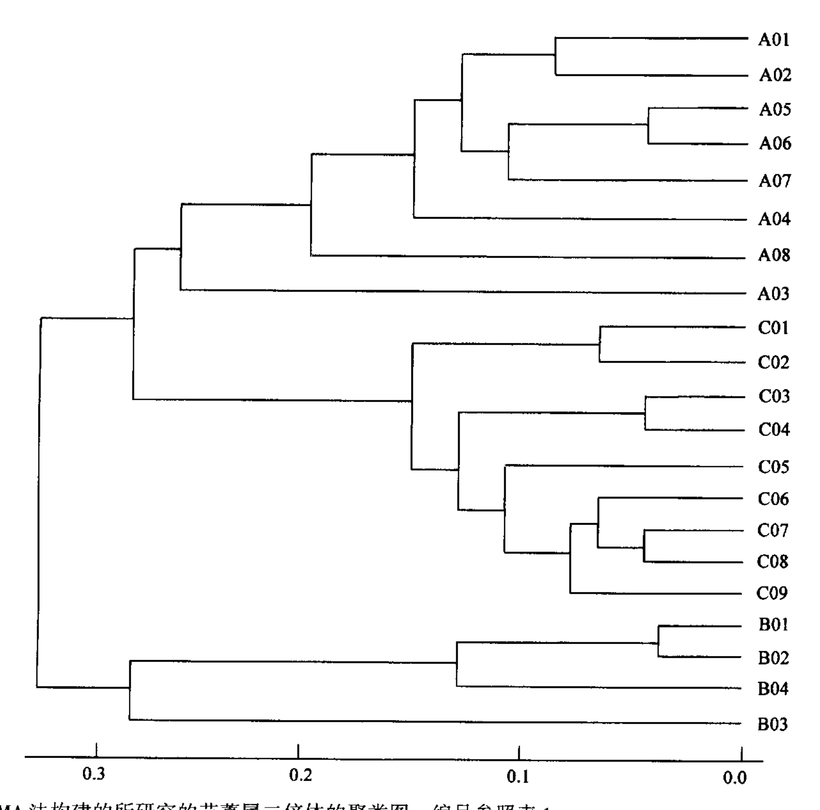


图3 用UPGMA法构建的所研究的芸薹属二倍体的聚类图 编号参照表1。
Fig. 3. The dendrogram for diploids in *Brassica* generated from RAPD data using UPGMA method. The accession numbers are the same as those listed in Table 1.

对33个多倍体或二倍体进行UPGMA聚类分析所得的聚类图见图4。从该图来看，这33个二倍体或多倍体聚成两个大分支。其中所有含B基因组的物种聚为一大支，且在这一大支里面，基因组为BBCC的多倍体首先与基因组为BB的二倍体聚在一起，再与基因组为AABB的多倍体聚为一支（*B. juncea* 的一个变种除外）。在另一个大分支中，基因组为AACC的多倍体首先与基因组为CC的二倍体聚在一起，再与基因组为AA的二倍体聚合。

2.2 异源多倍体形成后基因组的变化情况

把同一物种（即基因组类型相同）的不同材料中都出现的或都不出现的带用于统计，都出现的带记为“+”，都不出现的带记为“-”，并通过比较在多倍体和它的祖先种中出现或不出现的这些带纹，观察多倍体形成之后其基因组组成与其祖先基因组相比发生的变化。有意义的现象如在多倍体及其两个祖先种中都出现的带纹（表3中a所指代的情况）；只在祖先种之一中出现而在多倍体中没有出现的带纹（表3中b、c所指代的情况）；在两个祖先种中都出现而在多倍体中没有出现的带纹（表3中d所指代的情况）；在祖先种之一中出现且在多倍体中出现的带纹（表3中e、f所指代的情况）；在两个祖先种中都没有出现但在多倍体中出现的带纹（表3中g所指代的情况）。

从表3可以看出，对基因组为AABB的多倍体来说，二倍体祖先种之一（AA）材料中都出现的带有7 + 11 + 6 = 24条，其中在多倍体中消失了的有11条；另一个二倍体祖先种

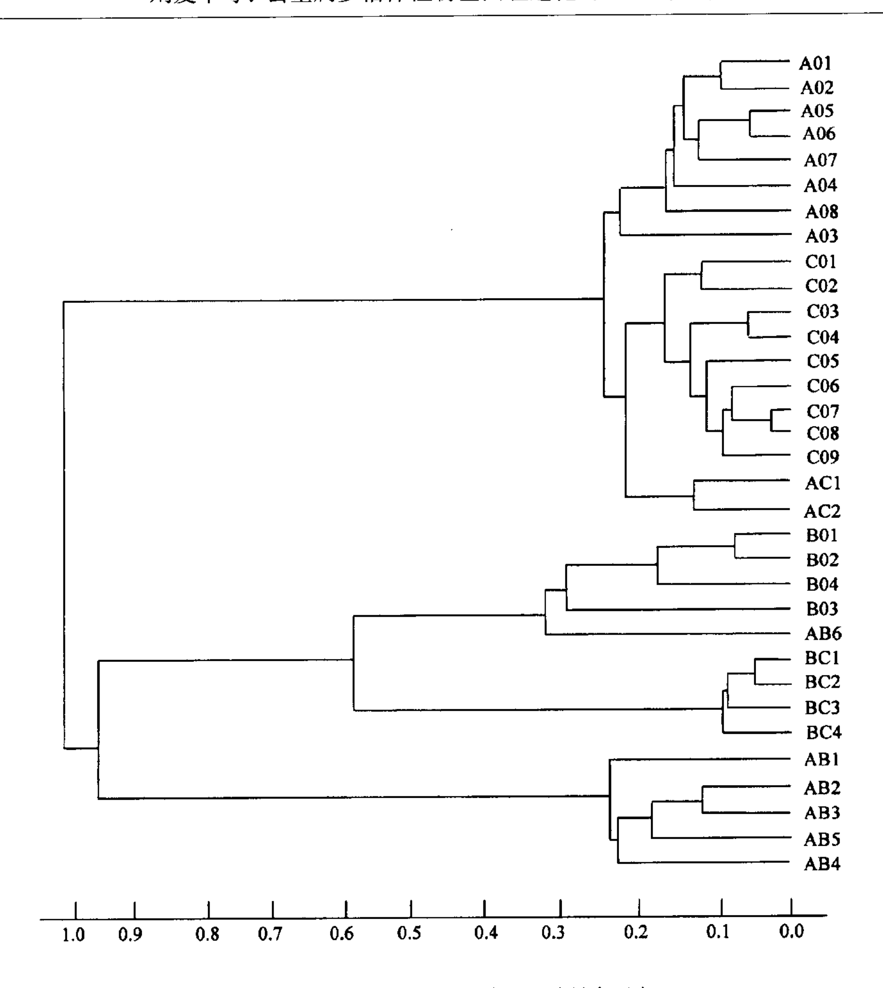


图 4　用 UPGMA 法构建的所研究的芸薹属多倍体与二倍体的聚类图　编号参照表 1。

Fig. 4.　The dendrogram for polyploids and diploids in *Brassica* generated from RAPD data using UPGMA method. The accession numbers are the same as those listed in Table 1.

(BB)材料中都出现的带有 7 + 5 + 5 = 17 条，其中在多倍体中消失了的有 5 条。同样地，对基因组为 BBCC 的多倍体来说，祖先种之一(BB)材料中都出现的带有 13 + 4 + 1 + 7 = 25 条，其中在多倍体中消失了的有 4 + 1 = 5 条；另一个祖先种(CC)材料中都出现的带有 13 + 14 + 1 + 13 = 41 条，其中在多倍体中消失了的有 14 + 1 = 15 条。对基因组为 AACC 的多倍体来说，祖先种之一(AA)材料中都出现的带有 17 + 16 + 2 + 11 = 46 条，其中在多倍体中消失了的有 16 + 2 = 18 条；另一个祖先种(CC)材料中都出现的带有 17 + 10 + 2 + 14 = 43 条，其中在多倍体中消失了的有 10 + 2 = 12 条。此外，在基因组为 AABB、BBCC 和 AACC 的多倍体中出现的新带数量分别为 3、6 和 5 条。

由表 3 可以计算得到，在基因组为 AABB 的异源多倍体中，A 基因组带纹消失的比例为 45.8%(11/24)，B 基因组带纹消失的比例为 29.4%(5/17)；在基因组为 BBCC 的异源多倍体中，B 基因组带纹消失的比例为 20.0%(5/25)，C 基因组带纹消失的比例为 36.6%(15/41)；在基因组为 AACC 的异源多倍体中，A 基因组带纹消失的比例为 39.1%(18/46)，C 基因组带纹消失的比例为 27.9%(12/43)。

表 3 多倍体基因组的变化情况
Table 3 Genomic changes of polyploids

编号 No.	祖先种一 One ancestor	祖先种二 The other ancestor	多倍体 Polyploid	带纹数目 The number of bands		
				AABB	BBCC	AACC
a	+	+	+	7	13	17
b	+	-	-	11	4	16
c	-	+	-	5	14	10
d	+	+	-	0	1	2
e	+	-	+	6	7	11
f	-	+	+	5	13	14
g	-	-	+	3	6	5

+，有带；-，无带。
+，positive；-，negative.

3 讨 论

3.1 关于芸薹属禹氏三角中二倍体物种间的亲缘关系

芸薹属内3个异源多倍体物种 *B. juncea*（AABB）、*B. carinata*（BBCC）和 *B. napus*（AACC）是由该属3个二倍体基本种 *B. campestris*（AA）、*B. nigra*（BB）和 *B. oleracea*（CC）杂交-多倍化形成的，要了解清楚异源多倍体的进化，有必要先了解清楚其祖先二倍体物种间的亲缘关系。

Song等（1988）发现，在芸薹属的3个基本种之间，*B. campestris*（AA）和 *B. oleracea*（CC）的RFLP标记比较相似，而 *B. nigra*（BB）与它们的差异很大，他们认为 *B. campestris*（AA）与 *B. oleracea*（CC）间的亲缘关系比与 *B. nigra*（BB）更近。Osborn（1991）发现这3个二倍体种具有部分同源性，其中 *B. campestris*（AA）和 *B. oleracea*（CC）的基因组同源性程度较高，而 *B. nigra*（BB）与它们的同源性程度较低。Cheng等（1994）对芸薹属物种减数分裂中染色体行为的研究结果也与上述相一致。Snowdon等（1997）利用荧光原位杂交（FISH）方法也证实A、C基因组间高度的同源性。本研究所得到的二倍体材料聚类图（图3）表明，在亲缘关系上，基因组为AA（*B. campestris*）的二倍体物种与基因组为CC（*B. oleracea*）的二倍体物种间的亲缘关系比与基因组为BB（*B. nigra*）的二倍体物种的亲缘关系要近，这与前人的研究结果基本相符。

芸薹属3个二倍体基本种之间的这种关系与它们的起源有关。Warwick和Black（1991）用cpDNA探针对芸薹属植物进行了RFLP分析，结果将 *B. campestris*（AA）和 *B. oleracea*（CC）归为一个进化谱系，二者的共同祖先与野甘蓝 *B. oleracea* var. *oleracea* 接近，而 *B. nigra*（BB）属于另一个进化谱系，并发现它与白芥（*Sinapis alba* L.）非常接近。Truco等（1996）根据A、C基因组间的高度同源性，假定A从C基因组衍生而来，并推断当前栽培的二倍体种由两个主要类群进化而成，即 *B. campestris*（AA）/*B. oleracea*（CC）类与 *B. nigra* 类。从本研究所得到的聚类图（图3）可以看出，*B. campestris* 的所有变种和 *B. oleracea*（BB）的所有变种聚为一支，*B. nigra*（BB）聚为另一支，支持Truco等的推断。

3.2 关于芸薹属禹氏三角中异源多倍体基因组的进化

对于芸薹属异源多倍体及其祖先二倍体之间的关系，禹氏三角形已经得到了大家的公认，但是对于芸薹属异源多倍体形成之后其基因组的进化情况，还没有较明确的定论。Song 等(1995)认为，在芸薹属中，伴随着多倍化的高频率的基因组变化是与亲本二倍体基因组的分化程度正相关的。从本研究所得到的聚类图 4 来看，异源多倍体 *B. napus* (AACC)、二倍体 *B. oleracea* (CC)和 *B. campestris* (AA)的所有变种这三部分聚为一支，其余所有含 B 基因组的异源多倍体 *B. juncea* (AABB)、*B. carinata* (BBCC)和二倍体 *B. nigra* (BB)聚为一支。这表明在异源多倍体 *B. napus* (AACC)形成以后，其基因组组成与祖先基因组 A 和 C 相差不大，但对异源多倍体 *B. juncea* (AABB)和 *B. carinata* (BBCC)来讲，其基因组组成只与 B 基因组相似，而其他基因组则发生了较大的变化。结合图 3 得到的二倍体之间的亲缘关系来看，A、B 和 C 3 个基因组之间，A 和 C 亲缘关系最近，支持 Song 等(1995)的结论。同时，他们认为同源重组是引起这些基因组变化的主要原因之一，虽然我们没有直接的证据表明是什么因子引起了这些变化，但我们统计的带纹变化情况证实了芸薹属多倍体形成之后，其核基因组组成不是简单的祖先基因组的加和，而是发生了一定程度的变化。

多倍体中基因组发生的变化和祖先基因组之间相互的作用直接相关。我们根据表 3 得到的结果，基因组 A 在异源多倍体 *B. juncea* (AABB)形成后消失的比例比在 *B. napus* (AACC)中的要高，基因组 B 在异源多倍体 *B. juncea* (AABB)形成后消失的比例比在 *B. carinata* (BBCC)中的要高，基因组 C 在异源多倍体 *B. carinata* (BBCC)形成后消失的比例比在 *B. napus* (AACC)中的要高。

另外，在图 4 中，*B. nigra* (BB)先与 *B. carinata* (BBCC)聚在一起，然后再与 *B. juncea* (AABB)聚在一起，只有 *B. juncea* 的一个栽培品种(屯留黄芥)例外，它最先和 *B. nigra* 聚在一起，这表明它的基因组组成与其他含 B 基因组的多倍体相比可能与 *B. nigra* 最为相似，但总的看来，*B. carinata* (BBCC)和 *B. juncea* (AABB)的基因组结构都分别与它们的两个不同祖先基因组中的一个，即 B 基因组，在结构上更为相类似。本研究中对多倍体基因组中不同祖先基因组带纹在多倍体中消失情况的统计也证实了以上推论(对 AABB, A/B = 46%/29%；对 BBCC, C/B = 37%/20%)。这种同一物种的不同祖先基因组进化速度存在差异的现象在小麦中也存在(余波澜等，2001)。从本研究得到的结果来看，芸薹属中，B 基因组无论与 A 基因组或 C 基因组组合形成四倍体，多倍体中它的变化总是最小。值得注意的是，Chen 和 Pikaard(1997)基于 RFLP 分析发现在芸薹属异源多倍体植物种子的胚乳中沉默的 rDNA 是由 DNA 甲基化和组氨酸去乙酰化作用维持的，他们认为 *B. nigra* (BB)的 rDNA 竞争能力大于 *B. campestris* (AA)的 rDNA，而 *B. campestris* (AA)竞争能力大于 *B. oleracea* (CC)，这是在转录水平上控制的，后者的 rRNA 转录本倾向于被降解。考虑到多倍体植物在自然界的成功进化除了与 DNA 序列水平的变化密切相关以外，更与基因表达调控密不可分，芸薹属多倍体中 B 基因组在不同水平上的特殊表现是否有着其深刻的进化意义还需要更多的证据来说明。

致谢　美国加利福尼亚大学 Carlos F. Quiros 教授、波兰 Silesian 大学 Robert Hasterok 博士、华中农业大学吴江生教授、中国农业科学院油料作物研究所伍晓明先生和武汉市蔬菜研

究所梅时勇先生提供了部分实验种子,在此一并致谢。

参 考 文 献

Axelsson T, Bowman C M, Sharpe A G, Lydiate D J, Lagercrantz U. 2000. Amphiploid *Brassica juncea* contains conserved progenitor genomes. Genome 43: 679 – 688.

Cai C-L (蔡从利), Wang J-B (王建波), Jing R-C (景润春), Zhu Y-G (朱英国). 2001. RAPD analysis on the genome evolution in allopolyploid species in *Aegilops*. Acta Genetica Sinica (遗传学报) 28: 158 – 165.

Chen Z J, Pikaard C S. 1997. Epigenetic silencing of RNA polymerase I transcription: A role for DNA methylation and histone modification in nucleolar dominance. Genes & Development 11: 2124 – 2136.

Cheng B F, Heneen W K, Chen B Y. 1994. Meiotic studies on a *Brassica campestris-alboglabra* monosomic addition line and derived *B. campestris* primary trisomics. Genome 37: 584 – 589.

Demeke T, Adams R P, Chibbar R. 1992. Potential taxonomic use of random amplified polymorphic DNA (RAPD): a case study in *Brassica*. Theoretical and Applied Genetics 84: 990 – 994.

Doyle J J, Doyle J L. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochemical Bulletin 19: 11 – 15.

Hanson R E, Zhao X P, Islam-Faridi M N, Paterson A H, Zwick M S, Crane C F, McKnight T D, Stelly D M, Price H J. 1998. Evolution of interspersed repetitive elements in *Gossypium* (Malvaceae). American Journal of Botany 85: 1364 – 1368.

Luo S-L (罗素兰), He P-C (贺普超), Zheng X-Q (郑学勤), Zhou P (周鹏). 2001. Genetic diversity in wild grapes native to China based on the randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. Acta Botanica Sinica (植物学报) 43: 158 – 163.

Osborn T C. 1991. Genome analysis in *Brassica* using RFLPs. Plant Molecular Biology 2: 14 – 23.

Peng J-Y (彭建营), Shu H-R (束怀瑞), Peng S-Q (彭士琪). 2002. To address the problem of infraspecific classification of *Ziziphus jujuba* Mill. using RAPD data. Acta Phytotaxonomica Sinica (植物分类学报) 40: 89 – 94.

Snowdon R J, Kohler W, Friedt W. 1997. Genomic *in situ* hybridization in *Brasssica* amphidiploids and interspecific hybrids. Theoretical and Applied Genetics 95: 1320 – 1324.

Song K M, Lu P, Tank K, Osborn T C. 1995. Rapid genome change in synthetic polyploids of *Brassica* and its implications for polyploid evolution. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA 92: 7719 – 7723.

Song K M, Osborn T C, Williams P H. 1988. *Brassica* taxonomy based on nuclear restriction fragment length polymorphism (RFLP). Theoretical and Applied Genetics 75: 784 – 794.

Truco M J, Hu J, Sadowski J. 1996. Inter- and intra- genomic homology of the *Brassica* genomes: implications for their origin and evolution. Theoretical and Applied Genetics 93: 1225 – 1233.

U N. 1935. Genome analysis in *Brassica* with special reference to the experimental formation of *B. napus* and peculiar mode of fertilization. Japanese Journal of Botany 7: 389 – 452.

Warwick S I, Black L D. 1991. Molecular systematics of *Brassica* and allied genera (subtribe Brassicinae, Brassiceae) — chloroplast genome and cytodeme congruence. Theoretical and Applied Genetics 82: 81 – 92.

Waters E R, Schaal B A. 1996. Biased gene conversion is not occurring among rDNA repeats in the *Brassica* triangle. Genome 39: 150 – 154.

Wendel J F. 2000. Genome evolution in polyploids. Plant Molecular Biology 42: 225 – 249.

Yang J (杨继). 2001. The formation and evolution of polyploid genomes in plants. Acta Phytotaxonomica Sinica (植物分类学报) 39: 357 – 371.

Yu B-L (余波澜), Huang Z-F (黄朝峰), Zhou W-J (周文娟), Zhang W-J (张文俊). 2001. Evolution study of wheat (*Triticum aestivum* L.) A, B and D genome based on DNA sequence similarity. Acta Genetica Sinica (遗传学报) 28: 635 – 639.